

• 药剂与工艺 •

基于生物效价评价不同粉碎粒度对复方鳖甲软肝片体外溶出度的影响

肖云芝^{1,2}, 戴 领^{1,2}, 吕青远², 于 超², 禹玉洪³, 韩 晋^{2*}, 袁海龙^{2*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 中国人民解放军第三〇二医院, 北京 100039

3. 亚宝药业集团股份有限公司, 北京 101111

摘 要: **目的** 采用 MTT 比色法从细胞增殖的角度, 结合 HPLC 法, 探讨不同粉碎粒度对中药固体制剂体外溶出度的影响。**方法** 以复方鳖甲软肝片为模型药, 对其原粉入药的药材进行不同程度的粉碎, 考察在 pH 7.4 PBS 溶出介质中, 不同粒度复方鳖甲软肝片溶出液对 LX-2 肝星状细胞的抑制作用, 提出基于细胞抑制率所得复方鳖甲软肝片的累积溶出度, 并与 HPLC 法测定芍药苷指标成分所得的溶出度运用 f_2 相似因子法进行相关性评价。**结果** 芍药苷溶出度随粉碎粒度改变而发生变化, 其中 200、300 目体外累积溶出率较高, 且 f_2 相似因子大于 50, 表明粒度为 200、300 目时, 2 种方法所测的溶出度具有较好的相关性。**结论** 基于生物效价检测方法可用于复方鳖甲软肝片的粒度筛选, 同时, 考虑到实际生产过程中成本因素, 确定 200 目为复方鳖甲软肝片的最佳生产工艺。

关键词: 复方鳖甲软肝片; 溶出度; 粒度; MTT 比色法; 中药固体制剂

中图分类号: R283.6; R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)18-2520-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.18.006

Effects of different pulverization fineness on *in vitro* dissolution rate of Compound Biejia Ruangan Tablet based on biological value evaluationXIAO Yun-zhi^{1,2}, DAI Ling^{1,2}, LV Qing-yuan², YU Chao², YU Yu-hong³, HAN Jin², YUAN Hai-long²

1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. China Military Institute of Chinese Materia Medica, 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China

3. Yabao Pharmaceutical Group Corp., Beijing 101111, China

Abstract: **Objective** To explore the effects of different pulverization fineness of solid preparations of Chinese materia medica on their *in vitro* dissolution, using MTT method combined with HPLC. **Methods** Compound Biejia Ruangan Tablet (CBRT) was used as model drug, and MTT method was used to obtain the characteristic cell inhibitory rate by different pulverization fineness of dissolving solutions in the dissolution medium (phosphate buffer, pH value 7.4) at different time points. From these results, the cumulative dissolution of CBRT based on cell inhibitory rate was obtained. The dissolution rates of paeoniflorin was determined by HPLC method. Using f_2 similar factor, the relevance of these two methods was evaluated. **Results** Dissolution of paeoniflorin is changed with the change of pulverization fineness, the accumulative dissolutions of 200 and 300 meshes *in vitro* were higher than those of other meshes. The results showed that f_2 values of 200 and 300 meshes were more than 50, indicating that there was a good correlation between the two methods of measuring the dissolution rate. **Conclusion** The results show that the biological potency detection could be used to screen the particle size of CBRT. Considering the production cost of CBRT, 200 mesh is the best particle size.

Key words: Compound Biejia Ruangan Tablet; dissolution rate; particle size; MTT method; solid preparation of Chinese materia medica

收稿日期: 2013-04-26

基金项目: 国家新药创制重大专项 (2011ZX09201-201-14, 2011ZX09201-201-35); 国家自然科学基金资助项目 (81073069)

作者简介: 肖云芝, 硕士研究生, 研究方向为中药新制剂、新剂型、新技术研究。Tel: (010)66933312 E-mail: destiny7@163.com

*通信作者 袁海龙 Tel: (010)66933367 E-mail: yhlpharm@126.com

韩 晋 Tel: (010)66933225 E-mail: hanjin302emba@163.com

复方鳖甲软肝片(Compound Biejia Ruangan Tablet, CBRT)是我国临床治疗肝纤维化及早期肝硬化的首选药物,主要由鳖甲、赤芍、当归等11味药组成,其中鳖甲、赤芍、紫河车、三七、冬虫夏草5味药均为原粉粉碎直接入药,所以粉碎工艺对复方鳖甲软肝片的质量势必会产生重要影响,药材的粉碎粒度也会直接影响处方中有效成分的溶出,从而影响到制剂的整体吸收。基于上述情况,本课题组拟对复方鳖甲软肝片中原粉入药的药材不同粉碎粒度对体外溶出度的影响进行考察,以进一步控制产品质量。

随着人们对溶出度认识的不断加深,药物的溶出度试验已成为评价制剂质量及生产工艺的重要指标之一^[1]。但对于中药固体制剂而言,其药效是多成分共同作用的结果,检测其中1种或几种指标成分,可能与整体药效出现偏差,不能完全代表中药固体制剂的质量和药效^[2]。因此需要寻找新的方法从整体上评价中药固体制剂的质量。生物效价检测方法能反映药物临床活性,可用于评价中药品质及药性的研究,有文献报道采用生物效价检测方法研究益母草、薏苡仁等^[3-4]。

本研究采用现代粉碎和分析技术,对原粉入药的药材进行粉碎,以臣药赤芍中芍药苷作为指标成分,考察不同粉碎粒度工艺对复方鳖甲软肝片样品的溶出度差异,并结合通过四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法^[5-6]评价细胞抑制率的方法,建立化学分析-生物效价相关联的检测方法,确定药效最佳的复方鳖甲软肝片的粉碎粒度,为复方鳖甲软肝片的工艺优化及临床应用提供科学基础,也为客观表征中药固体制剂的整体药效提供了一个新思路。

1 仪器与材料

BSA—124S精密电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);岛津LC—20AT高效液相色谱仪(含在线脱气机,四元梯度泵,自动进样器,DAD检测器);RC—6溶出度测试仪(天津新天光技术开发有限公司);XDS—1B倒置生物显微镜(北京京瑞天下科技有限公司);Multiskan GO全波长酶标仪(Thermo Scientific);Forma Series II水套CO₂培养箱(Thermo Fisher)。鳖甲、赤芍、当归等药材[解放军三〇二医院药房提供,经解放军三〇二医院袁海龙研究员鉴定,分别为鳖科动物鳖 *Trionyx sinensis* Wiegmann的背甲、毛茛科植物川赤芍 *Paeonia veitchii* Lynch的干燥根、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.)

Diels.的干燥根等];复方鳖甲软肝片(内蒙古福瑞医疗科技有限公司,批号20121206,0.5 g/片);芍药苷对照品(批号110736-200422,中国药品生物制品检定所);LX-2肝星状细胞(北京协和细胞资源中心);色谱甲醇,重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 复方鳖甲软肝片样品制备

取处方量药材鳖甲、赤芍、紫河车、三七、冬虫夏草,经粉碎后,分别过100、150、200、300目筛,再与其余6味药材水煎液经浓缩、干燥、粉碎后的细粉混匀^[7],制成不同粒度的复方鳖甲软肝片样品。

2.2 HPLC测定芍药苷方法建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为Alltima C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液-甲醇(75:25),体积流量为1.0 mL/min;室温,检测波长为232 nm,进样量为10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品适量置25 mL量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,配制成含芍药苷36.68 μg/mL的对照品储备液,备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 按照溶出度测定法《中国药典》2010年版附录XC第三法(小杯法)^[8],以脱气处理的pH 7.4磷酸盐缓冲液200 mL为溶出介质,转速75 r/min,温度37℃,依法操作,30 min时,取样2 mL,立即滤过,取续滤液,即为供试品溶液。

2.2.4 阴性对照溶液制备 按处方比例缺少赤芍的其他药材,按其工艺制成赤芍阴性制剂,再按“2.2.3”项下方法制备,即得阴性对照溶液。

2.2.5 专属性考察 将对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液按“2.2.1”项下色谱条件进行测定,供试品中芍药苷与其他组分色谱峰达到基线分离,阴性溶液在与芍药苷对照品相同保留时间处无色谱峰,可认为处方中其他药材与辅料对芍药苷的测定无干扰,色谱图见图1。

2.2.6 线性关系考察 精密吸取36.68 μg/mL的芍药苷对照品储备液适量,用甲醇稀释得1.834、3.668、5.502、9.17、18.34、27.51、36.68 μg/mL的系列对照品溶液,分别吸取上述溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进行测定,以峰面积积分值为纵坐标(Y),进样量为横坐标(X)进行线性回归,得回归方程 $Y=28\,723X-1\,626.7$, $r=0.998\,6$,结果表明,

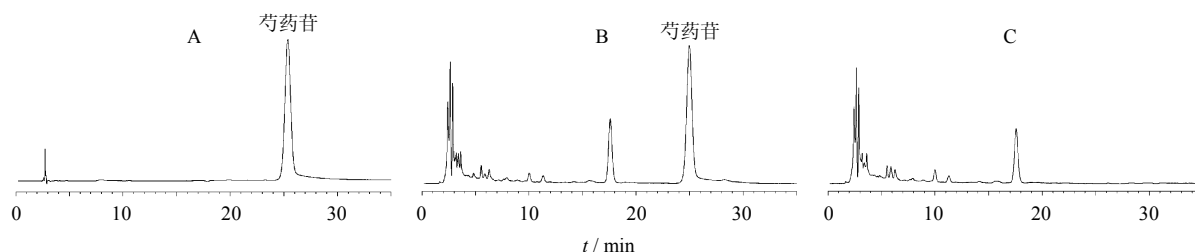


图1 芍药苷对照品 (A)、复方鳖甲软肝片 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of paeoniflorin reference substance (A), CBRT (B), and negative control (C)

芍药苷在 1.834~36.68 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.2.7 精密度试验 精密吸取 9.17 $\mu\text{g/mL}$ 的芍药苷对照品溶液按“2.2.1”项下色谱条件测定芍药苷的峰面积,于同日内重复测定 5 次,计算日内精密度;连续测定 5 d,计算日间精密度,结果日内精密度 RSD 为 0.39%,日间精密度 RSD 为 0.65%。

2.2.8 稳定性试验 取供试品溶液于 0、2、6、9、12 h 测定峰面积,结果显示,供试品溶液在 12 h 内,芍药苷 RSD 为 0.48%,表明在 12 h 内供试品溶液基本稳定。

2.2.9 重复性试验 取复方鳖甲软肝片,共 5 片,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件测定芍药苷的峰面积,芍药苷质量分数的平均值为 3.072 8 mg/g, RSD 为 1.05%。结果表明,本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 先按“2.2.1”项下方法测定供试品中芍药苷的量;另量取已测定的供试品,共 9 份,均分为 3 组,分别加入相当于所取样品溶液标示量 80%、100%、120% 的芍药苷对照品溶液,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,依法测定,计算回收率,结果显示芍药苷的平均回收率为 99.49%,RSD 为 0.79%,表明本法回收率较好,准确度较高。

2.3 溶出度测定

2.3.1 溶出介质初步选择 本实验中选用 4 种不同溶出介质 [pH 6.8、7.0、7.4 磷酸盐缓冲液 (PBS) 和水],按溶出度测定项下进行操作,测定复方鳖甲软肝片在不同介质中各取样时间点处的累积溶出率,结果显示,在 pH 7.4 PBS 中芍药苷的溶出度最大,故以 pH 7.4 PBS 作为溶出介质,见图 2。

2.3.2 溶出度的测定 取不同粒度的复方鳖甲软肝片各 6 片,精密称定质量 (W_i),按《中国药典》2010 年版二部溶出度测定法第三法^[8],以 pH 7.4 PBS 200 mL 为溶出介质,转速 75 r/min,温度 37 $^{\circ}\text{C}$,

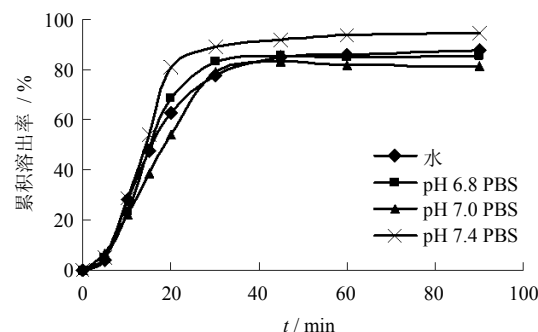


图2 4种不同介质中复方鳖甲软肝片的溶出曲线

Fig. 2 Dissolution curves of CBRT in four different media

依法操作,分别于 5、10、15、20、30、45、60、90 min 时取样 2 mL (同时立即补加等量同温溶出介质),样品溶出液经 0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液即得样品 1~32,按“2.2.1”项下方法测定样品溶出液峰面积 (A_i),代入回归方程中,计算各时间点复方鳖甲软肝片的平均累积溶出率,结果见表 1。

2.4 基于生物效价的复方鳖甲软肝片体外溶出度测定

2.4.1 相对累积溶出率的测定

精密称取市售复方

表1 不同粒度工艺复方鳖甲软肝片累积溶出率
($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Accumulated dissolution rates of CBRT with different particle sizes ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

时间 / min	平均累积溶出率 / %			
	100 目	150 目	200 目	300 目
5	11.01 $\pm$ 3.71	11.13 $\pm$ 4.72	7.12 $\pm$ 6.24	6.45 $\pm$ 5.12
10	26.44 $\pm$ 4.83	28.74 $\pm$ 5.12	23.06 $\pm$ 4.23	29.29 $\pm$ 4.89
15	39.79 $\pm$ 5.12	41.84 $\pm$ 3.72	35.67 $\pm$ 5.23	47.53 $\pm$ 3.90
20	55.46 $\pm$ 3.71	55.36 $\pm$ 3.22	47.43 $\pm$ 3.38	66.33 $\pm$ 3.82
30	83.97 $\pm$ 6.13	77.99 $\pm$ 2.68	67.40 $\pm$ 3.19	97.99 $\pm$ 4.12
45	87.69 $\pm$ 4.33	77.85 $\pm$ 2.21	97.98 $\pm$ 3.24	98.64 $\pm$ 3.24
60	89.39 $\pm$ 3.21	77.84 $\pm$ 3.51	98.88 $\pm$ 3.03	99.54 $\pm$ 3.00
90	89.43 $\pm$ 2.41	77.97 $\pm$ 4.90	99.06 $\pm$ 2.11	99.72 $\pm$ 2.33

鳖甲软肝片 10 片, 研细后精密称取 1 片质量 (W), 置于 200 mL 锥形瓶中, 加入脱气处理的 pH 7.4 磷酸盐缓冲液 200 mL, 超声处理 30 min 后, 放冷, 补足至刻度, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过 (即得样品 33), 按“2.2.1”项下色谱条件, 测定峰面积值 (P), 计算相对累积溶出率。

$$\text{相对累积溶出率} = (P_i \times W) / (P \times W_i)$$

2.4.2 复方鳖甲软肝片溶出液抑制 LX-2 肝星状细胞生物活性检测方法的建立 将复苏后的 LX-2 肝星状细胞均匀接种于 DMEM 培养液中 (含 20% 胎牛血清; 1×10^4 U/L 青霉素; 100 mg/L 链霉素以及所需氨基酸和葡萄糖等营养物质), 放置培养箱里培养 (37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2), 当细胞处于对数生长期时, 用胰酶消化, 培养液悬浮细胞。调整细胞密度后, 接种于 96 孔培养板培养 24 h (每孔 200 μL) [9], 取 1 mL 溶出液与 1 mL 培养基混合制成样品, 每孔加入 200 μL 样品, 待药物作用 24 h, 每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 液 20 μL , 继续孵育 4 h, 加入 DMSO 200 μL , 振荡 10 min 后, 使结晶物充分溶解。在波长 490 nm 下, 用酶联免疫检测仪测定各孔吸光度 (A) 值, 计算复方鳖甲软肝片溶出液的细胞抑制率。

$$\text{抑制率} = (A_0 - A_1) / A_0$$

A_1 为给药组 A 值, A_0 为空白组 A 值

2.4.3 复方鳖甲软肝片生物溶出方法学考察

(1) 精密度试验: 取“2.2.3”项下方法制备的供试品溶液, 加入 96 孔板中, 按上述方法, 以同一 LX-2 肝星状细胞、培养基及药液重复操作 5 次。结果表明, 96 孔板各孔 (除去 4 侧共 36 个空白孔, 共 60 孔) 5 次所测细胞抑制率的 RSD 小于 5.0%, 说明在本实验条件下精密度良好。

(2) 稳定性试验: 取“2.2.3”项下方法制备的供试品溶液, 加入 5 块不同的 96 孔板中, 按上述方法, 以同一 LX-2 肝星状细胞、培养基及药液重复操作 5 次。结果表明, 5 块 96 孔板各孔 (60 孔) 所测细胞抑制率的 RSD 小于 5.0%, 说明在本实验条件下稳定性良好。

(3) 等同性试验: 取“2.2.3”项下方法制备的供试品溶液, 加入 96 孔板中, 按上述方法检测 96 孔板中各孔 (60 孔) LX-2 肝星状细胞的 A 值, 并计算出细胞抑制率。结果表明, 各孔细胞抑制率的 RSD 小于 5.0%, 说明在本实验条件下各孔所得结果具有良好的等同性。

2.4.4 不同粒度的复方鳖甲软肝片溶出液细胞抑制

率的测定 按“2.4.2”项下方法对不同粒度的复方鳖甲软肝片进行细胞抑制率 (细胞抑制率计算已扣除溶出介质的影响) 测定, 根据结果, 绘制细胞抑制曲线, 见图 3。

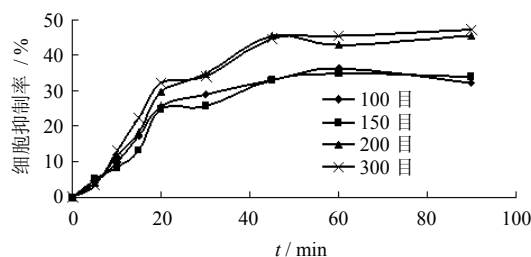


图3 不同粒度的复方鳖甲软肝片细胞抑制曲线

Fig. 3 Cell inhibitory rates of CBRT with different particle sizes

2.4.5 基于肝星状细胞抑制率的复方鳖甲软肝片体外溶出度 基于常规化学方法, 由中药固体制剂相对累积溶出率的方法, 运用肝星状细胞生长抑制率, 提出采用肝星状细胞抑制率测定中药固体制剂的体外溶出度的方法, 结果见表 2。

$$\text{体外溶出度} = (D_i \times W) / (D_A \times W_i)$$

D_i 代表样品 1~32 的肝星状细胞抑制率, D_A 代表样品 33 的肝星状细胞抑制率

2.5 f_2 相似因子法

比较 HPLC 分析方法同生物肝星状细胞抑制率两者所绘制的累积溶出曲线的相关性, 结果见图 4。若 $50 \leq f_2 \leq 100$, 则表示 2 种方法所测溶出度相似; 若 $f_2 < 50$, 则表示 2 种方法所测溶出度不相似^[10]。通过计算可知 100、150 目时 $f_2 < 50$, 而在 200、300 目时 $f_2 \geq 50$ 。因此当粉碎粒度为 200、300 目时, 2 种方法测得的生物利用度相似。

3 讨论

由累积溶出度数据及细胞抑制率数据可知, 300 目的复方鳖甲软肝片的溶出率及细胞抑制率均明显优于其他目数的复方鳖甲软肝片, 因为药材经不同程度的粉碎后, 药材的粒度不同引起比表面积及孔隙率不同, 从而导致原粉的吸附性、溶解性、亲和力、化学反应速率等的不同, 影响药物在胃液中的分散、溶解^[11]。

本实验采用 MTT 比色法, 从细胞抑制率的角度, 用已知的溶出时间代替未知的药液质量浓度, 以期透过化学成分看药效本质, 以评价复方鳖甲软肝片的质量变化, 将不同粒度的复方鳖甲软肝片指标成分芍药苷的溶出度同其生物效价进行 f_2 相似因

表2 不同目数复方鳖甲软肝片生物溶出率

Table 2 Bio-dissolution rates of CBRT with different meshes

目数	试验号	t / min	抑制率 / %	生物溶出率 / %	目数	试验号	t / min	抑制率 / %	生物溶出率 / %
100	1	5	4.13	8.02	300	18	10	11.57	22.73
	2	10	9.92	19.52		19	15	18.18	35.63
	3	15	17.36	33.95		20	20	29.75	57.49
	4	20	25.62	49.68		21	30	34.71	67.00
	5	30	28.93	57.50		22	45	45.45	87.60
	6	45	33.06	63.82		23	60	42.98	83.42
	7	60	36.36	71.10		24	90	45.45	87.28
	8	90	32.23	63.13		25	5	3.31	6.41
150	9	5	4.96	9.89		26	10	13.22	25.98
	10	10	8.26	16.24		27	15	22.31	43.72
	11	15	13.22	25.91		28	20	32.23	62.85
	12	20	24.79	47.91		29	30	33.88	65.71
	13	30	25.62	49.55		30	45	44.62	89.04
	14	45	33.06	63.71		31	60	45.45	92.71
	15	60	34.71	66.65		32	90	47.11	94.02
	16	90	33.88	65.30		33	—	50.42	—
200	17	5	4.13	8.24					

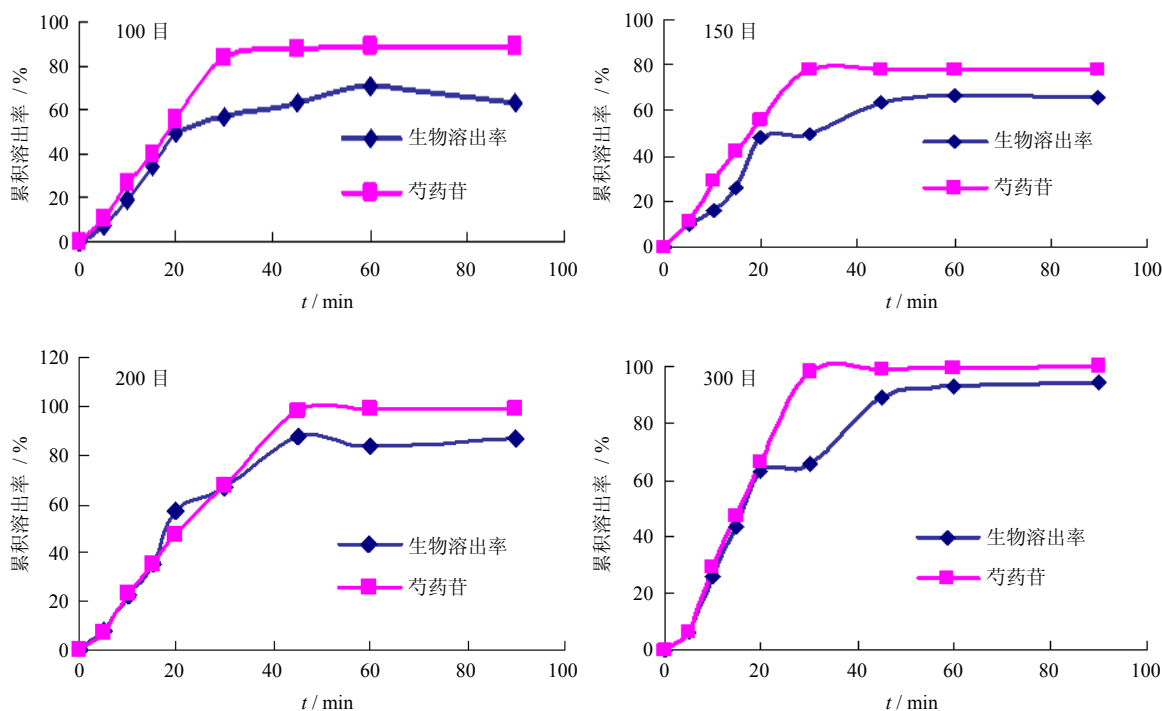


图4 不同目数复方鳖甲软肝片芍药苷累积溶出率和生物测定溶出率曲线

Fig. 4 Curves for accumulated dissolution rates of paeoniflorin with different meshes and bioassay dissolution rates

子比较, 结果表明, 在粒度为 200、300 目时, f_2 相似因子大于 50, 2 种方法所测的溶出度具有相关性, 同时 HPLC 法和生物效价两种方法都可以证明

200 目及 300 目粒度的复方鳖甲软肝片工艺较佳, 因此可以初步判定在较佳生产工艺下, 运用生物效价评价复方鳖甲软肝片的体外溶出度是可行的, 能

较客观地反映其药物的体外溶出度。考虑工厂设备及成本因素,选择200目作为最佳生产工艺。

当粉碎粒度为100、150目时,芍药苷的溶出度虽然较低,但其他组分的溶出情况未知,因为芍药苷在整体药效中的地位并不十分明确,所以芍药苷的溶出度并不一定与其细胞抑制率一致。而200、300目时由于颗粒粒径较小,包括芍药苷在内的各种组分都溶出较快、较完全,所以此时利用HPLC测得的溶出度和细胞抑制测得率的生物溶出度的结论相似。这进一步说明单纯依靠单一指标来评判中药固体制剂的生物溶出度具有极大的局限性。

溶出度试验是固体药物制剂的“灵魂”^[12],尤其在中药固体制剂质量控制中起到“四两拨千金”的作用,中药的药物组分较其他类型药物(化学药、生物药)多,工艺对组分的影响较大,溶出度的测定为制剂处方及工艺筛选提供重要依据,能有效地避免在研制工作中的盲目,同时,溶出度也能反映药物在体内的吸收及药效情况。本实验结果表明,原粉入药的药材经一定程度粉碎后有利于提高药物溶出度和溶出速率,进而达到用药剂量更小、生物利用度更高、药效发挥更迅速的目的。但中药成分复杂,通过单一指标评价整体,难免有失偏颇,所以需要同时结合生物效价方法来综合评价中药固体制剂体外溶出度,以期化学和生物关联并用,最终达到控制中药固体制剂质量的目的。

参考文献

[1] 王晓辉. 药物溶出度的测定方法及其进展 [J]. 天津药

学, 2006, 18(2): 68-71.

- [2] 姜延良, 霍海如. 重视中药多组分整合作用的研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2003, 5(2): 1-4.
- [3] 杨明华, 杨苏蓓, 金祖汉, 等. 益母草药材生物检定方法的研究 (II)——缩宫素、益母草量效关系和检定适用效应模式的建立 [J]. 中药材, 2002, 6(6): 409-411.
- [4] 李 远, 陈玮娜, 李海滨. 基于生物效价检测的薏苡仁质量控制研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(11): 2232-2234.
- [5] 魏文青, 赵满仓, 刘 晶, 等. MTT 肿瘤药物敏感试验的方法学研究 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2008, 13(10): 871-874.
- [6] 黄银久, 宋宝安, 金林红, 等. SRB 法和 MTT 法抗肿瘤药物筛选结果相关性研究 [J]. 生物学杂志, 2009, 26(4): 13-16.
- [7] 内蒙古福瑞制药有限责任公司. 复方鳖甲软肝片用于治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的用途: 中国, CN00105696.4 [P]. 2000-11-15.
- [8] 中国药典 [S]. 二部. 2010.
- [9] 徐宏平, 何 航. 水飞蓟宾对人肝星状细胞 LX-2 凋亡及 $\alpha 1(I)$ 胶原 mRNA 表达的影响 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2009, 44(3): 597-599.
- [10] 夏锦辉, 刘昌孝. 固体药物制剂的体外溶出度统计学评价分析 [J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(2): 130-131.
- [11] 袁宏宇, 黄 芳, 郭立玮, 等. 苍术、黄柏及二妙丸超细微粉的生物药剂学的研究 II. 超细粉的二妙丸的体外溶出度研究 [J]. 中草药, 2002, 33(9): 790-792.
- [12] 袁海龙, 黄 雪, 肖小河. 中药固体制剂溶出度研究与展望 [J]. 世界科学技术—中医药现代, 2010, 12(6): 915-919.